

РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ

(19) BG

(11) **62272 B1**
6(51) A 61 K 31/44



ОПИСАНИЕ КЪМ ПАТЕНТ

ЗА

ИЗОБРЕТЕНИЕ

ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО

(21) Регистров № 99047
(22) Заявено на 16.09.94
(24) Начало на действие
на патента от: 20.12.93

Приоритетни данни

(31) 2085785 (32) 18.12.92 (33) CA

(41) Публикувана заявка в
бюлетин № 6 на 30.06.95
(45) Отпечатано на 30.07.99
(46) Публикувано в бюлетин № 7
на 30.07.99
(56) Информационни източници:

(62) Разделена заявка от рег. №

(73) Патентоприетел(и):
CANADIAN SPINAL RESEARCH
ORGANIZATION, RICHMOND HILL,
ONTARIO (CA)

(72) Изобретател(и):
Robert R. Hansebout, Hamilton, Ontario (CA)
Andrew R. Blight, Chapel Hill, NS (US)

(74) Представител по индустриална
собственост:
Фани Владимирова Божинова, 1000
София, п.к. 728

(86) № и дата на PCT заявка:
PCT/CA93/00554, 20.12.93

(87) № и дата на PCT публикация:
WO94/14439, 07.07.94

(54) ИЗПОЛЗВАНЕ НА 4-АМИОПИРИДИН В ТЕРАПИЯТА НА НЕВРОЛОГИЧНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ

(57) Съединението намира приложение в неврологията за намаляване на болката и спастичността при пациенти с увреждане на гръбначния мозък. Средството се прилага орално или интравенозно в доза от 15 до 30 mg и интратекално в доза 50 до 200 mg/h.

10 претенции

BG 62272 B1

(54) ИЗПОЛЗВАНЕ НА 4-АМИНОПИРИДИН В ТЕРАПИЯТА НА НЕВРОЛОГИЧНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ

Област на техниката

Изобретението се отнася до използването на 4-аминопиридин (4-AP) в терапията на неврологични заболявания. По-специално изобретението се отнася до използването на 4-аминопиридин при пациенти с увреден гръбначен мозък за намаляване на хроничната болка и спастичните симптоми.

Неврологичният дефицит в резултат на травматично увреждане на гръбначния мозък се описва традиционно с прекъсване на аксоните в проводящите снопчета (бяло вещество), които обикновено предават взаимодействието между областите на невраксис над и под мястото на директното увреждане. Клиничните патологични изследвания на травмите на гръбначния мозък потвърждават, че съществува значителна загуба на бяло вещество, въпреки че най-сериозните увреждания обикновено се появяват в централното сиво вещество (Kakulas and Bedbrook, 1969; Jellinger, 1976; Kakulas, 1984). Пълното прекъсване на гръбначния мозък е относително рядко, но степента на оценяване на аксоните обикновено не се определя, дори и при малкото случаи, в които е проведено изследване "post mortem". Установяването в цялост на поражението е важен момент, тъй като нарушението на проводимостта в някое от оцелелите снопчета може да допринесе за загуби в сетивността и в двигателните функции. Експерименталните изследвания при животни, описани например в Eidelberg et al., 1977; Eidelberg et al., 1981a; Eidelberg et al., 1981b; Blight, 1983a; Blight and DeCrescito, 1986; Bresnahan et al., 1987; Noble and Wrathall, 1989; Blight, 1991) и много други клинични наблюдения (Noordenbos and Wall, 1976) са показали, че комплексните неврологични функции могат да бъдат предавани от малка част от оцелелите аксонови снопчета.

Електрофизиологичните изследвания върху изолиран гръбначен мозък са показали хронична липса на проводимост на реагиращия потенциал в оцелели миелинови аксони, в резултат на увреждане с тъп предмет. (Blight, 1983b). Някои от тези блокировки на проводимостта могат да бъдат преодоляни на ниво

единични нервни влакна, като се използва лекарството 4-аминопиридин (4-AP) (Blight, 1989). Венозното инжектиране на това съединение при животни с експериментални или естествени поражения на гръбначния мозък, води до забележими подобрения в електрофизиологичната (Blight и Gruner, 1987) и поведенческа функция (Blight et al., 1991). Беше организирано начално изследване на пациенти с увреждания на гръбначния мозък от д-р Нейт Хайес, което показва възможност за средна терапевтична полза, най-вече на електрофизиологично ниво, съчетано с липса на сериозни странични ефекти (Hayes et al., 1991 - предстояща публикация).

Техническа същност на изобретението

Съгласно изобретението е проектиран клиничен експеримент за изследване на възможните функционални предимства на 4-AP при пациенти с хронични увреждания на гръбначния мозък, при което е използван плацебо контролиран, двойно слеп кръстосан проект, за да се вземат под внимание възможните ефекти от очакванията на пациента и да се сведат до минимум отклоненията от наблюденията. Изследвани са широк диапазон от типове увреждания на базата на очакването, че този подход за лекуване недостига на проводимост варира по отношение на ефективността си, в зависимост от разликите в сериозността и разпределението на уврежданията в гръбначния мозък.

Резултатите от изследването показват, че 4-аминопиридинът е полезен при повишаване двигателната дейност и повишаване на сетивността при пациенти с увреждания на гръбначния мозък. Установено е, че 4-аминопиридинът също така потиска хроничните болки и облекчава спастичността при някои пациенти. Последният ефект е неочакван на базата на известните свойства на 4-аминопиридина.

Съгласно изобретението е създаден метод за използване на 4-аминопиридин в терапията на заболявания, които засягат нервната система.

Съгласно изобретението е създаден също така метод за използването на 4-аминопиридин за потискане болката, особено при пациенти с увреждания на гръбначния мозък.

Съгласно изобретението е създаден също така метод за използване на 4-аминопиридин за облекчаване на спастичността, особено при пациенти с увреждания на гръбначния мозък.

Описание на фигурите

На фигура 1 са показани графики, илюстриращи хода на промяната с времето на плазмените нива на 4-АР при всички обекти, при повишаване на общата доза. Повечето обекти показват известна степен на колебание на измерваните лекарствени нива, което може би е показателно за ентеро-съдовата рециркулация. Периодът на инфузия на 4-АР е показан с плътните прави линии.

На фигура 2 е показано разсеяно представяне, което пояснява връзката между поетата обща доза от 4-АР (в mg/kg) и измерените пикови плазмени нива. Наблюдаваната връзка е такава, че всеки mg/kg, инфузирано за около 2 h, постигнатото пиково плазмено ниво е около 0,27 mg/l.

На фигура 3 графично са представени нивата на 4-АР в плазмата, регистрирани в два обекта (ЕВ, GCh) след второто немаскирано приемане на 4-АР. Нивата на плазмата са под откриваемата граница (3 ng/ml) след 48 h и при двамата пациенти.

На фигура 4 е показана хистограма за илюстриране хода на промените в неврологичния резултат на сетивността при убождане с игла при два обекта (GCh и ЕВ), които се появиха за втори опит. Дадени са усреднените стойности за лявата и дясната страна за тестваните дерматоми между C5 и S1. Максимално подобрение в сетивността за двата обекта е получено 24 h след инфузията на препарата. Пациентът, изследван на 72-ия час (GCh), е възстановил напълно статуса от преди инфузията.

На фигура 5 са показани хистограми за илюстриране хода на промените в двигателната дейност при тествани мускули от двете страни на тялото в един от обектите (ЕВ), който се появи за втора инфузия с 4-АР. Както и при изследването на сетивността (фиг. 4), повишаването на резултата се поддържа до 24 h след инфузията, въпреки че при този случай максималното подобрение се наблюдава вече на втория час.

Подробно описание на предпочитаното изпълнение

Получаване на 4-аминопиридин (4-АР)

- 5 Лекарството се получава в пречистена прахообразна форма от компанията Regis Chemical Company (Morton Grove, Illinois) и от него се приготвя разтвор за инжектиране, като се използва 0,9% физиологичен разтвор (Uges and Huizinga, 1981) в аптеката на болницата St.Josef. Аптеката също така отговаря за тестване за пирогенност на разтвора и определяне реда, по който лекарственото средство и носителят трябва да се приемат от различните
- 10 пациенти, както и за непрекъснато повишаващата се дозировка по време на провеждания курс на лечение. За първите два пациента 4-АР е приготвен в концентрация 3 mg/ml, като концентрацията се повишава до 4 и 5 mg/ml за следващите пациенти (таблица 1). След това
- 15 лекарството се разрежда 50 пъти с декстрозен физиологичен разтвор преди изпращането и се приема под формата на непрекъсната венозна инфузия при скорост 150 ml/h, контролирана
- 20 от перисталтична инфузионна помпа. Следователно скоростта на подаване на лекарството нараства от 9 mg/h при първите двама пациенти до 15 mg/h при последните четирима. Контролът на носителя е неразличим от разтвора на лекарството и се подава по същия начин.

Обекти

- Подбрани са осем пациента за изследването, за да се получи диапазон от увреждания на гръбначен мозък, включващ случаи на квадриплегия, квадрипарезис, параплегия и парапарезис. Основните критерии за изключване при подбора на пациенти са следните: данни за ментална недостатъчност, инфекциозни болести,
- 35 предишни травми на главата или мозъчни увреждания, епилептични припадъци или понисък праг на припадане, сърдечносъдови, метаболитни, бъбречни или респираторни отклонения, алергия спрямо пиридинсъдържащи съединения и бременност. В експеримента са включени петима мъже и три жени на възраст от 18 до 65 години. Всички случаи са хронични от 1,5 до 10 години от времето на поражението. Седем от тях са вследствие на травматични
- 40 увреждания, а един от тях - случай на трансверзален миелит с неизвестен произход. По-подробно описание на историите на пациенти-

те и прилаганите дозировки са посочени в таблица 1.

Двама от пациентите (НТ и GCh) са били с медикаментозно лечение против болка и/или спастичност. От тези пациенти беше изис- 5 кано да се откажат от всякакви редовни лекарства по време на експерименталното лечение и оценката, като се съблюдава известен период на отделянето на лекарството от организма (на "отмиването" му), преди да започне изслед- 10 ването. Изследването е одобрено от Институционния комитет за използване на човешки обекти и от Борда за защита на здравето в Канада. Всички обекти са информирани за възможни рискове вследствие на експерименталното ле- 15 чение и от всеки е взето съгласие.

Протокол

Експерименталният проект е двойно сляпо, плацебо контролирано кръстосано изследване, при което на всеки пациент е давано лекарство и контролна проба от носителя при различни случаи, разделени от две седмици. Редът на приемането е случаен. Кодирането е поддържано независимо от фармацевтите и е разкрито на изследователите едва след представяне 25 на таблиците и анализите на данните.

Схемата на всеки експеримент е една и съща. Пациентът е приеман в болницата предишния ден и рано на следващата сутрин е подложен на неврологично изследване и 30 електродиагностика. След това се подава лекарството или плацебoto през постоянен венозен катетър в продължение на около 2 h, на 20-минутни интервали на базата на подаването на 1 ml аликвоти от разтвор на 4-AP. Пациентът се 35 следи електроенцефалографски на чести интервали по време на процедурата. Образци от кръв и урина се получават от допълнителни венозни и уринарни катетри. Кръвта се взема на интервали до 5 h от началото на подаването на лекарството, а урината се взема преди инфузията и на 1 и 2 h след началото на инфузията. Пациентите се оценяват отново чрез пълен неврологичен преглед от същия екзамина- 40 тор в края на периода на подаване на лекарството. След това преминават отново електродиагностичните тестове. Понякога се извършва по-ограничен неврологичен преглед по време на подаване на лекарството, за да се идентифицират някои ранни промени, при това, без 50 да се стига до значителна умора от прегледа. Електродиагностичните тестове се повтарят на

2 h след прекъсване приемането на препарата. Пациентите, проявяващи явни ефекти от лечението, остават в болницата през нощта и се прегледват на следващия ден. По-нататъшните контакти с пациентите се осъществяват по телефона или с кореспонденция, в зависимост от по-дългосрочните промени, свързани с лечението им.

Двама от пациентите, които докладваха по-продължителни ефекти от лекарството, бяха върнати в болницата след 4 месеца за втори немаскиран експеримент, който включваше ежедневни неврологични прегледи в продължение на 3-4 дни. Ежедневно се вземат образци от плазма от двамата пациенти за измерване нивото на 4-AP.

Електродиагностично тестване

Непосредствено преди и след инфузията на 4-AP или плацебо и приблизително 2 h след края на инфузията, пациентите се оценяват с набор от стандартни електродиагностични тестове: проводимост в перонеалните, постериор тибиялните и сурални нерви, електромиография на тибialis anterior и гастронемийски мускулите по време на почивката и максимално волево свиване и соматосензорно предизвикани потенциали. Пациентите се следят също така с електроенцефалограф на определени интервали по време на инфузията, за да се търсят данни за възможна активност за припадък.

Неврологична оценка

Пациентите се оценяват, като се използва модифицираната форма на стандартите на Американската асоциация за гръбначномозъчни увреждания (ASIA) за Неврологична класификация на пациенти с гръбначномозъчни увреждания (ревизирана 1990). Модификациите са необходими главно за да се опрости прегледът, така че да може да се провежда върху лежащ пациент с венозни и уринарен катетри, както и с електроди, които затрудняват степента на движение. Прегледите, проведени след деня на приемането на лекарственото средство, се извършват на базата извън пациента с частично облечени пациенти и оценката на дерматомите беше понякога непълна. Всяка част от преглед е записана с видеокамера, като се повтаря от двете страни на тялото.

Степенуването на двигателните дейности се извършва на базата на скалата от 0 до 5

на ASIA, където е възможно, по следните критерии:

0 - отсъствие (пълна парализа);

1 - следи (палпируема или видима контракция, предизвикваща слабо или никакво движение около връзката);

2 - слабо (активно движение през повечето или целия нормален диапазон на движение с елиминирана тежест - където е от значение);

3 - задоволително (активно движение през целия диапазон на движение спрямо гравитацията);

4 - добро (активно движение спрямо съпротивление);

5 - нормално.

Разглежданите мускули са следните: делтовиден, бицепс, трицепс, разгъвач на китката, сгъвач на китката, разгъвачи и сгъвачи на пръстите (комбинирано), сгъвачи на бедрото (илиопсоас), разгъвачи на бедрото, квадрицепс, подколянно сухожилие, глезенни дорзифлексори (tibialis anterior), плантарфлексори (gastrocnemius, soleus), разгъвачи на пръстите на краката (extensor hallucis longus). Общият възможен резултат от пълното изследване на двигателните функции е 130.

Сетивността е оценявана по аналогична петстепенна скала от 0 до 4:

0 - липса (никаква способност за откриване на дразнителя);

1 - следи (нееднаква или променлива способност за откриване на дразнителя със слаба или никаква разрешаваща способност по отношение на качеството);

2 - леко (способен да открие дразнителя, но съвсем слаба или с променливо качество спрямо съответните незасегнати области);

3 - умерено (способност за откриване на дразнителя практически точно, но с понижена интензивност);

4 - нормална по отношение на качество и интензитет чувствителност.

Тестуваните сетивни способности са леко докосване, убождане, вибрации, положение на ставата и температура. Тестуваните дерматомни за докосване и убождане са C5, 6, 7, 8, T1, T7-9, L1, 2, 3, 4, 5 и S1, при общ възможен резултат 96 за всеки способ. Чувствителността спрямо вибрации се тества двустранно, на рамото, лакътя, коляното и глезена. Чувствителността спрямо температура се тества при

затворени очи на обекта, чрез духане на студен въздух от разстояние или дишане на топъл въздух отблизо върху дорзалната повърхност на ръцете и стъпалата. Положението на ставите се определя при затворени очи на пациента и при прилагане на свиващи и разгъващи движения на палеца на крака. Общият възможен резултат при пълния преглед за чувствителност е 256 точки.

10 Отделните (сегментарни) рефлексии (бицепс, трицепс, коляно и глезен) се оценяват по традиционния начин с чукче по петобалната схема от 0 до 4:

0 - няма откриваем отговор;

15 1 - слаб отговор;

2 - активен отговор с нормална амплитуда;

3 - отговор с аномално голяма амплитуда;

20 4 - отговор с голяма амплитуда и известен клонус.

Максималният възможен резултат при пациент с хиперрефлексия и клонус при всички тествани мускули е 32.

25 Измерване на 4-AP в плазма и урина

Кръвните проби се събират от постоянен поставен венозен катетър в ръката, противоположна на тази, в която се инжектира препаратът. Десет от единадесет такива проби се вземат на интервали до 5 h след първоначалното подаване на препарата (виж фиг. 1). Пробите от урина се вземат от пликовете на катетрите на пациентите на първия и втория час след началото на инфузията.

35 Пробите от плазма и урина се съхраняват при -80°C, като нивата на 4-AP се анализират с колонна течна хроматография съгласно подробно описания метод (Kostka et al., 1992). Накратко, и двете проби, от плазма и урина, се подлагат на бензоилиране чрез реакцията на Schotten-Baumann, за да се превърне 4-AP в N-бензоил-4-AP (Bz4-AP) преди екстракцията течност-течност. Като вътрешен стандарт е избран пропионил прокаинамид (PPA). Тези екстракти се хроматографира

40 ват върху 15 cm x 4,6 mm ултрасферична октилова колона, като се използва подвижна фаза, съдържаща 12% ацетонитрил и 2 g/l тетраметил амониев перхлорат, настроен на pH 3 с перхлорна киселина. Екстракционният добив на Bz4-AP е 80-85%.

Резултати

Изследването е проведено съгласно установения протокол, с няколко изключения. Един от пациентите (AW) получи само 25 mg 4-AP, вместо планираните 30 mg тотална доза. В този случай инфузията беше прекъсната, поради неразположение в ръката на мястото на инфузията и значителна степен на притеснение и безпокойство, проявени от пациента по време на инфузията. В този случай нямаше следващи усложнения и пациентът се почувства добре след по-малко от един час след прекратяване на инфузията. Един от пациентите (LJ), за когото беше предвидена обща доза от 18 mg 4-AP, разделена на 6 дози по 3 mg, първият ден от опита не се появи и не беше изследван, докато дозата не достигна 6 mg. Тъй като аптеката беше приготвила по-малко количество от материала за инжектиране, на този пациент можеше да му се дадат само 5 дози по 5 mg. Един от пациентите (RB) не можеше да издържи отказа от нормалното болкоуспокоително лекарство (Percocet-oxycodone HCl, ацетаминофен) и му беше позволено да започне да го взема в деня на провеждане на теста.

При първия опит трима от пациентите получиха плацебо и петима получиха 4-AP (таблица 1). От аптеката не беше дадена информация на изследователите за инфузионните разтвори, съдържащи плацебо и препарата, докато всички данни не бяха оценени, включително химичния анализ на образците от кръв и урина, които бяха и последните получени данни.

Плазмени нива на 4-AP

Ходът на промените на нивото на 4-AP в плазмата при всеки един от пациентите е показан на фиг. 1. Повечето пациенти показват колебание в измерените нива на препарата. Пиковите стойности се появяват малко преди или след края на инфузионния период. Записаното пиково ниво в плазмата е в значителна зависимост от приетата доза от пациентите, изразена в mg/kg/h (фиг. 2). При всички пациенти са установени значителни плазмени нива на 4-AP на 2-4 h след края на инфузията на препарата, когато бяха взети последните кръвни проби и не беше възможно да се екстраполира от тези данни подобен ход на елиминирането на съединението, в зависимост от времето. Кръвни проби бяха взети дневно в продължение на три дни от двама пациенти, които се върнаха за второ немаскирано приемане на 4-

AP. Плазмените нива в деня на инфузията и на другия ден са показани на фиг. 3. Концентрацията на 4-AP е под откриваемия минимум (около 3 ng/ml) в пробите, взети 2 дни след инфузията. Скоростта на намаляване на концентрацията на препарата в плазмата на тези двама пациенти показва, че в кръвта ще има под 1% от пиковата стойност 2 дни след инфузията.

Отрицателни странични ефекти

Най-често проявен страничен ефект от препарата е неразположение (дискомфорт) в ръката, в която се извършва инфузията. Силата на това неразположение варира при различните пациенти от не по-голямо от нормалното проявено при венозния катетър (в сравнение с това в другата ръка, от която се вземат пробите) до силна и пареща болка, достатъчно силна, за да се наложи прекъсване на подаването на препарата при един от пациентите. Трима от пациентите (HT, GCu, GCh) не докладваха за някакво необичайно усещане в ръката или за други отрицателни странични ефекти. Двама от пациентите (RB, AW) докладваха остра изгаряща болка в ръката и показаха също така повишено безпокойство, придружено от кратки, променящи се периоди на изпотяване и треперене към края на инфузионния период. Тези двама пациенти бяха маркирани като нестабилни личности, а единият (RB) – със забележимо общо безпокойство преди изследването. Пациентът (AW) е единственият, който не можа да понесе докрай инфузията на лекарството, като също така стана нетърпелив и отказа да завърши електродиагностиката на опита с плацебо. Двама от обектите (LJ, EB), докладваха за чувство на леко главоболие към края на инфузионния период. Двама пациенти (AW, EB) докладваха за закъсняло усещане за парене в областта на кожата под нивото на увреждане, траещо 1-2 h през нощта след инфузията. Не бяха открити никакви други явни странични ефекти от препарата по време на изследването. При електроенцефалографското изследване не бяха открити никакви неблагоприятни индикации, нито при рутинното наблюдение на жизнените знаци.

Електрофизиологични ефекти

Шестима от пациентите не показаха никакви откриваеми соматосензорни провокирани потенциали в отговор на стимулирането на

постериор тибиялния нерв, както преди, така и след инжектирането на препарата. Другите двама пациенти (AW, GCh) показаха соматосензорни провокирани потенциали с малка амплитуда, но повтарящи се. Те не се променяха значително по форма и амплитуда по време на инфузията на 4-AP или плацебо. Не бяха открити никакви ефекти, свързани с инфузията в проводимостта на периферните нерви. Електромиографичните данни бяха в съгласие с наблюдаваните промени в силата на мускулните контракции, но бяха твърде ограничени в броя на събраните проби, за да бъдат достоверни за непостоянния запис.

Неврологични ефекти

Нито един от обектите не докладва за никакви благоприятни промени по време на инжектирането на физиологичния разтвор. Трима от обектите (RB, SC, HT) не отбелязваха също така и никакво подобрене в кондицията им по време на инфузията на 4-AP. Това бяха тримата пациенти с най-силни увреждания и включваха двата обекта, диагностицирани като Frankel, клас А - никаква двигателна или сензорна функция под нивото на увреждане, а единият от двамата беше диагностициран като Frankel, клас Б. Останалите пет обекта, попадащи в диапазона на "непълни" увреждания, показваха двигателни и/или сензорни ефекти, някои от които бяха открити по време на неврологичния преглед в деня на инфузията. По-късните ефекти бяха съобщени от самите пациенти и дадоха повод за по-подробен преглед в курса на експеримента.

Промени в неврологичния преглед след 2 h

Известни промени в неврологичния резултат бяха отбелязани при пациентите на втория час от началото на инфузията на носителя и препарата. Общият брой точки в разликата преди инфузията и след нея са дадени в таблица 2. Въпреки че екзаминаторите присъждат половин точка в случаите, когато усещат, че обектите попадат между две оценки, при този анализ на резултатите тези половин точки се игнорират, както преди, така и при резултатите след инфузията. В тази таблица не са включени също така резултатите от тестовите за вибрация, които са показани отделно в таблица 3. Най-забележителните промени в резултат са явно тези, следващи приемането на 4-AP, и някои от тези промени са разг-

ледани отделно по-нататък. В почти всички случаи различните категории на оценка показват подобни или по-високи резултати след приемането на 4-AP, докато резултатите проявяват тенденция към застой или понижение при опитите с плацебо (таблица 2). Изключение от тази тенденция е наблюдавано при тестовите за вибрация, при които резултатите от трите обекта са значително по-ниски след инфузията на 4-AP (таблица 3).

Цялостните промени в резултатите от двигателните и сензорните изпитания, получени от таблица 2, са сравнени между опитите с 4-AP и плацебо, като се използва методът за сравняване по двойки на Wilcoxon. Промяната в сетивността е значително по-голяма след инфузията на 4-AP ($p = 0,03$), промяната в двигателната дейност не е толкова голяма ($p = 0,08$) при дадения малък брой случаи.

Съществува значителна тенденция към повишение на амплитудата на сухожилните рефлексни непосредствено след инфузията на 4-AP, в сравнение с относително малката промяна след приемането на плацебо (таблица 4). Повишаването на резултата при рефлексите се проявява предимно при ръцете, вероятно защото резултатите за долните крайници бяха вече с максималната стойност 4 преди приемането на препарата. При двама от пациентите (EB, GCh), прегледани на по-големи интервали, се отбелязваха леки понижения в резултата от сухожилния рефлекс на 24 и 48 h след инфузията, което е в съответствие с намаляването на спастичността им. Другите двама пациенти, прегледани на 24 h след приемането на препарата (AW, LJ) също показаха понижени рефлексни отговори в това време, въпреки запазените ефекти на двигателната и сензорна дейност.

По-късни промени при неврологичния преглед

Неврологичният преглед на 24 h след приемането на препарата не беше заложен като изискване в първоначалния протокол на експеримента и петима от пациентите напуснаха болницата в деня на инфузията. Трима от тях, прегледани на следващия ден след приемането на 4-AP (AW, LJ, GCh), показаха продължителни подобрения в неврологичните функции, включително при един от тях (LJ) - постоянно подобрене при усещането за убождане и положението на ставата под мястото на

увреждане, което не беше наблюдавано на 2 h. Тези наблюдения, заедно със сведенията от други пациенти за постоянни или забавени промени във функциите, доведоха до втора оценка на ефектите на 4-АР при два от обектите с ежедневни прегледи, докато неврологичните промени затихнаха (виж по-нататък).

Забавени ефекти, съобщени от обектите

Началното изследване беше замислено така, че да се изследват ефектите, които биха възникнали в деня след инфузията на препаратата на базата на публикуваната фармакокинетика за 4-АР и съобщенията от други клинични изследвания с това съединение. Обаче и петимата пациенти с по-малко тежки поражения съобщиха за известни забавени или продължени ефекти през деня след приемането на 4-АР. Тези сведения бяха достатъчно сложни, за да бъдат разгледани като индивидуални.

Обект LJ

Този пациент докладва за повишена чувствителност, болка в лявата ръка и известно гадене и леко главоболие по време на и непосредствено след инфузията. На следващия ден той е почувствал, че има слабо засилено движение на палеца и показалеца, също така, че има засилено усещане под нивото на увреждане, което беше потвърдено от неврологичния преглед. Обичайната пареща болка, която е усещал в хълбоците, е липсвала, въпреки че все още имало известно парене в долните крайници, което е било по-силно в сравнение с това преди изследването. Последвалите медицински наблюдения бяха усложнени, поради наличието на инфекция в пикочната система.

Обект EV

Този обект не докладва за никаква ефекти при първата инфузия (плацебо). След втората инфузия пациентът реши да се прибере у дома веднага след приключване на прегледа. Тя почувствала, че мускулните спазми на долния крайник са толкова остри в деня на изпитването, че е трудно да се оценят двигателните му характеристики. В деня след приемането на препаратата беше налице "забележимо възвръщане на чувствителността под нивото на увреждане до почти нормална чувствителност от двете страни". Съществуваше забележимо намаление на спастичността за дните, последвали инфузията. На четвъртия ден пациентът си върна нормалното му изискване за "Baclofen". Тази редукция на пластичността бе-

ше придружена от засилена двигателна сила в лявата ръка и крак. Пръстите на лявата ръка, които до експеримента са били способни да извършват само няколко трепкащи движения, можеха да се придвижат напред и назад 20-30 пъти, за разлика от нормално бързонастъпваща умора. Подобно подобрене беше наблюдавано и при движението на десния глезен. Възможни странични ефекти включват "усещане за топло под кожата от врата до гърба" в продължение на два дни и епизодичен запек. Този пациент дойде повторно за оценка на дълготрайните ефекти при втори, немаскиран опит.

Обект GCh

Този пациент показва забележимо подобрене в чувствителността под нивото на увреждане по време на инфузията на 4-АР. Той докладва, че не е страдал от отрицателни странични ефекти и е почувствал краката си "понормални". Обикновено е усещал краката си студени и е била налице постоянна болка в стъпалата и краката му. В продължение на най-малко два дни след инфузията на препаратата болката в краката е отсъствала, въпреки че е останала в известна степен в стъпалата му, но е почувствувал краката си топли, както "вътрешно", така и при допир. Около 3 дни след инфузията се е върнал в обичайния статус. Повишената двигателна сила при този пациент се е изразила главно в по-голяма издръжливост. Обикновено той е имал затруднения при извършване на повтарящи се движения с пръстите на краката, но в деня на инфузията на 4-АР е бил в състояние да ги движи напред и назад многократно без нормалната умора. Това повишаване на двигателния капацитет е свързано също така с намаляване на спастичността.

Същият пациент дойде отново за втори немаскиран експеримент с 4-АР и установи в основни линии същите ефекти с повишена чувствителност и двигателна издръжливост под нивото на увреждане, намаляване на хроничната болка и забележимо намаляване на спастичността. Преди втората инфузия мускулните спазми на краката бяха много остри. След инфузията и повече от 24 h след спастичността беше толкова значително намаляла, че пациентът изпита необичайно затруднение при смяната на инвалидния стол, защото краката му не го поддържаха по обичайния начин.

Обект AW

Този пациент показва повишена сила в долните крайници след инфузия само на 8 mg 4-AP. Той отбеляза също така забележимо подобрене в дишането, като е могъл да използва и разширяването на гръдния си кош освен диафрагменото дишане. След приемането на 21 mg инфузия, ръката му стана твърде болезнена и той стана неспокоен, след това ядосан и започна да проявява променящи се пристъпи на треперене и изпотяване. Инфузията на препарата беше прекратена и той възстанови състоянието си около 10 min. Усещаше повече чувствителност и сила в краката си, при все че това беше по-слабо, отколкото по времето на първата част от инфузията. На сутринта след инфузията показва подобрена сила и усещане в краката си, можеше да стане по-бързо и лесно от инвалидния стол и беше твърде положително настроен относно общите ефекти от препарата. При повторното идване за втора инфузия, 2 седмици по-късно, той съобщи, че двигателните и сензорните ефекти, включително подобреното дишане, са траели около 2 дни и след това постепенно са утихнали.

Обект GСu

Този обект беше най-слабо увреден от групата на сериозно увредените. Той не забеляза никакви промени в статуса си в деня на инфузия, но по-късно съобщи, че на другия ден след инфузията на 4-АР ръцете и десният му крак са станали по-силни с "може би около 25%" и можел да се справя по-ефективно със селскостопанската си работа. Почувствувал е значително намаляване на обичайната парестезия с изтръпване на ръцете.

Второ немаскирано приемане

Двамата пациенти, върнали се след 4 месеца за по-продължителна оценка (GCh, EB), показаха ефекти и странични ефекти, подобни на тези, наблюдавани при предишното маскирано приемане на 4-АР. В този случай, ходът на промяната на ефектите във времето можеше да бъде наблюдаван по-отблизо. Най-забележителната и широко разпространена промяна в неврологичния статус и при двамата пациенти беше разпределението на чувствителността при убождане под нивото на поражение. Забележимо засилване в отговора спрямо убождане под областта на поражение е показано графично на фиг. 4. Максимумът в подобряването на чувствителността се проявяваше на 24 h и бе-

ше все още откриваемо на 48 h след инфузията и в двата случая. Ефектите изглеждаха напълно изчезнали около 72 h при единия обект, който беше прегледан в това време. Налице е известна индикация за затихване от проксимална към дистална посока на ефекта, включително първоначално потискане на отговора в най-периферните дерматоми, прегледани 2 h след инфузията.

Прегледът на двигателните способности беше усложнен от промените в спастичността преди приемането на 4-АР, както и поради възникващите от време на време конфликтни ефекти на препарата върху двигателния контрол и двигателната сила. Намаляването на спастичността на мускулите на крака води понякога до намаляване на двигателната сила, по-специално при движението на бедрото и коляното, когато пациентът често трябва да използва обратното втвърдяване на мускула като помощ за придвижване. Наличните данни показват дълготраен ефект върху двигателната система, подобен на този, наблюдаван при оценката на чувствителността. Обаче, съществуват известни данни, че върховият ефект върху двигателните функции се постига при първия преглед на втория час (фиг. 5).

Анализ на резултатите

Изследването съгласно изобретението показва, че приемането на умерени дози от 4-АР от пациенти с хронични увреждания на гръбначния мозък е свързано с известен брой благоприятни ефекти в значително съотношение (5 от 6) в сравнение с тези с "непълни" увреждания. По-изразени неврологични ефекти бяха наблюдавани в тази група пациенти, в сравнение с предишните изследвания.

Обективността на неврологичните ефекти е подкрепена от няколко фактора. Първо, изследването е двойно слъпо и при все че някои от пациентите и изследователите може да са били ефективно "незаслепени" при опита с активната съставка, поради наличието на странични ефекти, не съществува връзка между появата на страничните ефекти и проявеното предимство. Най-разпространените и най-силно изразени ефекти бяха получени при пациент без странични ефекти и никакво подобрене не беше установено при двама от пациентите със странични ефекти. Докладваните ефекти от пациентите не винаги бяха тези, които те са очаквали като възможни. Някои от тези

ефекти бяха също така изненадващи за изследователите, особено намаляването на болката и спастичността, при това те бяха съобщени от пациенти, които нямаха връзка един с друг.

Статистическата оценка на тези промени е затруднена поради малкия брой случай, от подбора им от голям диапазон на интензивност от увреждания и от обикновената оценка на резултата, използвана в неврологичния анализ. Тези ограничения трябва да бъдат поставени от едната страна на везните спрямо обратимостта на ефекта от препарата, повторемостта при двамата пациенти, прегледани втори път, и качествата на ефектите, поделени между обектите. Ползата, произлязла от препарата, изглежда че е свързана със сериозността на увреждането, като най-силните ефекти се проявиха при умерено тежка квадриплегия (клас В по Frankel). Двама от пациентите с неврологично "пълни" увреждания на гръбначния мозък не показаха никакви благоприятни ефекти. Малките промени в неврологичния резултат, които последваха от приемането на плацебо от някои пациенти, (таблицы 2 и 3), изглежда че са резултат от три принципни фактора: 1) предизвиканата умора от повтарящото се тестване и продължителното обездвижване, необходимо за провеждане на самото изследване; (2) ограничение в повторемостта на оценките на резултата; 3) конкретни промени в неврологичната функция на обектите, включително наличието на нееднородни ("като кръпка") рецептивни области в тестваните дерматомни. Първият от тези фактори като че ли е най-определящ и вероятно е причина за превеса на отрицателните промени, последвали приемането на плацебо. По-малкият брой отрицателни промени след приемането на 4-АР трябва да се вземе предвид в резултата, като се прибави към по-големия брой положителни подобрения.

Наблюдението, че приемането на 4-АР може да има известен отрицателен ефект върху сетивността спрямо вибрация (таблица 3), е интригуващо. При все че размерът на образаца беше малък, възможността това намаляване на сетивността спрямо вибрации да бъде действително ефект от действието на 4-АР, се потвърждава и от наблюдението, че двама от пациентите (ЕВ, GCh) също така показаха известно снижаване на резултата при вибрации при повторното немаскирано инжектиране на препарата. Изглежда странно, че блокирането на калиевите канали може да повлияе селек-

тивно на предаването на сигнали, свързани с високочестотното нискоамплитудно стимулиране.

Неврологични ефекти при увреждане на гръбначния мозък

Въпреки че някои от неврологичните промени, свързани с приемането на 4-АР в тази група пациенти с увреждания на гръбначния мозък, бяха подобни на тези, наблюдавани преди при пациенти с множествена склероза (Stefoski et al., 1987; Davis et al., 1990; Stefoski et al., 1991), включително селективно нарастване на двигателната сила и възстановяване на сензорния дефицит с относителна бърза атака, продължителността на промените беше значителна, дори при някои обекти подобряването достигаше до над 48 h. Такива промени се проявиха в различна степен в пет от шестте случая на непълно увреждане на гръбначния мозък. Ползата беше достатъчно явна за самите пациенти, така че четирима от тях изразиха силно желание за редовно получаване на препарата.

Някои от най-интригуващите ефекти, наблюдавани и в двата случая - непълно и непълно увреждане, включиха дълготрайно намаляване на спастичността и хроничната болка и дизестезията, свързана с повърхностната температура в долните крайници. Тези резултати се подкрепят от голям брой фактори: а) Обектите не бяха подведени да очакват такива дълготрайни ефекти, но специално им беше казано, че всеки възможен благоприятен ефект ще трае най-много няколко часа; б) пациентите съобщиха независимо един от друг тези подобни комбинации от промени, които нито те, нито изследователите очакваха (противоположно на очакването, че 4-АР би могъл да влоши спастичността и парестезията); в) тези промени бяха докладвани само след приемането на препарата, а не след приемането на плацебо; г) тези промени имаха за резултат силно намаляване използването на аналгетик в един от случаите и на антиспастичните лекарства при най-малко в два от случаите; д) ефектите бяха повторени при второто приемане на препарата 4 месеца по-късно при двамата от пациентите.

Изглежда, че има две възможни обяснения за дълготрайността на ефектите: или се забавя елиминирането на препарата при тези обекти с увреждания на гръбначния мозък, което не е наблюдавано при доброволците и пациентите с множествена склероза (Uges et al., 1982; Evenhuis et al., 1981; Stefoski et al., 1991),

или препаратът предизвиква вторични промени в нервната система, които водят до продължително намаляване на спастичността и не-
 обичайно усещане за болка. Първата възмож-
 ност се подкрепя от предишните наблюдения
 за понижено изчистване на препарата в паци-
 енти с увреден гръбначен мозък (Segal et al.,
 1991) и се доказва чрез следене на нивата в
 плазмата на 4-AP в продължение на 3-4 дни
 от времето на инжектиране при двама от па-
 циентите, показали дълготрайни ефекти от
 лекарството. Въпреки че бяха налице откри-
 ваеми количества от препарата в плазмата в
 деня след инфузията, елиминирането му с вре-
 мето не беше ясно изразено във връзка с про-
 дължителните неврологични ефекти, които бя-
 ха наблюдавани и докладвани от пациентите.
 Това показва, че наистина 4-AP предизвиква
 промени в нервната система, които се поддър-
 жат в продължение на 1-2 дни.

Болка и спастичност

Механизмът на оказване на влияние вър-
 ху хроничната болка и спастичността е труд-
 но да се обясни, въпреки че значението му е
 критично, като се има предвид голямата сфе-
 ра на действие на тези проблеми и упоритата
 природа на централната болка в контекста на
 уврежданията на гръбнака (Beric et al., 1988;
 Tasker, 1990). Анатомичните основи и физио-
 логичните механизми на хроничната болка при
 уврежданията на гръбначния мозък не са доб-
 ре разбрани (Beric, 1990; Kakulas et al., 1990;
 Xu et al., 1992). Един от съдействащите кле-
 тъчни механизми може да бъде този, че увре-
 дените и демиелирани нервни влакна са с тен-
 денция да станат спонтанно активни (Ochoa,
 1982; Smith and McDonald, 1982). Блокадата
 на калиевите канали от 4-AP е с тенденция да
 предизвиква или засили такава спонтанна дей-
 ност и да предизвика "експлозивни" отговори
 на електростимулирането в увредените влак-
 на (Waxman et al., 1985; Targ and Kocsis, 1986;
 Kocsis et al., 1986; Blight, 1989). Следователно,
 може да се очаква, че 4-AP би могъл да пови-
 ши интензитета и разпространението на хро-
 ничната болка и дизестезията.

По подобен начин, тъй като е известно,
 че 4-AP при относително високи концентра-

ции засилва синапсовото предаване в гръбнач-
 ния мозък (Lemeignan, 1972; Jankowska et al.,
 1977; Jankowska et al., 1982), се очаква, че
 спастичността може да се засили, заедно с ця-
 лостната възбудимост на нервната система.
 Фактически прилагането на препарата в ня-
 кои случаи се свързваше с облекчаването на
 хроничната болка и спастичност, така че е въз-
 можно другите, по-специфични ефекти на бло-
 када на калциевите канали да доминират над
 общото повишаване на възбудимостта. Също
 така от промените в амплитудата на сухожил-
 ния рефлекс е очевидно, че общото засилване
 на синапсовото предаване преобладава в по-
 голяма степен в деня след приемането на ле-
 карството и затихва по-бързо от специфични-
 те промени в сензорните и двигателни функ-
 ции.

Три обекта, които страдаха от хронична
 болезнена дизестезия под нивото на уврежда-
 не (GCh, GCu, LJ), докладваха за значително
 облекчение след инфузията на 4-AP, преобла-
 даващо в близост до крайника. Един от обек-
 тите (EB), който страдаше от дизестезия под
 формата на непрекъснат сърбеж на едното
 рамо, не докладва за промяна в условията след
 приемането на лекарството.

Резюме

Описаните резултати показват, че 4-ами-
 нопиридин може да засили двигателната
 дейност и сетивността и да намали хронични-
 те болки и спастичността при индивиди с ув-
 реждания на гръбначния мозък. Последните два
 ефекта не са докладвани в други лит.източни-
 ци. Въпреки че изследването е ограничено до
 индивиди с увреждания в гръбначния мозък,
 4-аминопиридин може да бъде полезен също
 така в терапията на други заболявания, които
 оказват влияние на нервната система, по-спе-
 циално за намаляване на болките и спастич-
 ността при посочените заболявания.

Въпреки че 4-аминопиридин е приет ве-
 нозно в представения случай, очаква се, че
 оралното приемане също така би било полезно
 и може да премахне страничния ефект, отчет-
 ен в представеното изследване, по-специал-
 но болката в ръката около мястото на инфузия.

Таблица 1

Характеристика на обектите и приетите дози от 4-аминопиридин

Обект			Увреждания				Доза 4-AP		
Инициали	Пол	Възраст	Ниво	Франкел клас	Години	Причина	mg за 20 min	Обща (mg)	Обща (mg/kg)
RB	M	42	T7/8	A	6,5	падане	4	24	0,36
SC	Ж	39	T7	A	10	неизв.*	5	30	0,65
HT	Ж	29	C5	B(B)	5,5	гмуркане	3	18	0,37
LJ	M	32	C5	B(B)	8,5	гмуркане	5	25	0,34
EB	Ж	18	C5	B(C)	3,5	гмуркане	4	24	0,33
GCh	M	44	C5	B(C)	5	конструк.	5	33,5	0,53
AW	M	46	T6	Г(D)	1,5	хирургия	5	25	0,26
GCu	M	65	C4	Г(D)	9,5	спорт	3	18	0,22

Получили плацебо при първия опит и 4-AP при втория

*Трансверзален мислит с неизяснен произход

Таблица 2

Промени в неврологичния резултат на втория час след инфузията на носител (плацебо) или 4-аминопиридин. Показани са общите (във всички тестове) както отрицателни (-ve), така и положителни (+ve) промени в резултатите за всеки пациент. Общият възможен резултат за всеки пациент е 130 (за двигателни възможности) и 224 (чувствителност) точки.

Обект	Плацебо				4-AP			
	Промени в резултата*				Промени в резултата*			
	Двигат.		Сетивн.		Двигат.		Сетивн.	
	-ve	+ve	-ve	+ve	-ve	+ve	-ve	+ve
RB	0	0	0	0	0	0	0	0
SC	0	0	0	0	0	0	0	0
HT	0	0	0	0	0	0	0	+3
LJ	0	+1	-9	+3	0	0	0	+2
EB	0	+1	0	0	0	+4	-5	+14
GCh	0	0	0	0	0	+16	0	+27
AW	-2	0	-7	+2	0	+4	0	+20
GCu	-4	+1	-11	+6	0	+2	-2	0
Общо	-6	+3	-27	+11	0	+26	-7	+55

*Игнорира се плюс/минус половин точка в резултата от теста за вибрации

Таблица 3

Промени в общия резултат в сетивността спрямо вибрация на втория час след инфузията на носител (плацебо) или 4-аминопиридин. Общият възможен резултат за всеки пациент е 32 точки.

Обект	Плацебо		4-AP	
	-ve	+ve	-ve	+ve
RB	0	0	0	0
SC	0	0	0	0
HT	0	0	-7	+1
LJ	0	+2	0	0
EB	*	*	-4	0
GCh	0	0	-2	0
AW	-4	0	0	0
GCu	-1	+3	0	0
Общо	-5	+5	-12	+1

*Данните не са записани

Таблица 4

Промени в резултата при сухожилните рефлексни на втория час след инфузията на носител (плацебо) или 4-аминопиридин. Общият възможен резултат за всеки пациент е 32 точки.

Обект	Плацебо		4-AP	
	Ръце	Крака	Ръце	Крака
RB	0	+1	+4	+2
SC	0	0	+4	+1
HT	*	0	+1	-2
LJ	+2	0	*	*
EB	*	*	*	*
GCh	0	0	+4	0
AW	0	0	*	+3
GCu	0	-1	0	-2
Общо	+2	0	+13	+2

*Данните не са записани

Патентни претенции

1. Използване на 4-аминопиридин за 30
лечение на болка и спастичност при неврологично състояние.

2. Използване съгласно претенция 1, при
което неврологично състояние е в резултат на
увреждане на гръбначния мозък. 35

3. Използване съгласно претенция 1, при
което 4-аминопиридинът се прилага за нама-
ляване на болката.

4. Използване съгласно претенция 3, при
което 4-аминопиридинът се прилага за нама- 40
ляване на болката при пациенти с увреждане
на гръбначния мозък.

5. Използване съгласно претенция 1, при
което 4-аминопиридинът се прилага за нама-
ляване на спастичността.

6. Използване съгласно претенция 5, при
което 4-аминопиридинът се прилага за нама-

ляване на спастичността при увреждане на
гръбначния мозък.

7. Използване съгласно всяка от пре-
тенциите от 1 до 6, при което 4-аминопири-
динът се прилага в доза от около 15 до около
30 mg.

8. Използване съгласно претенция 7, при
което 4-аминопиридинът се прилага интраве-
нозно или орално.

9. Използване съгласно претенция 1, при
което 4-аминопиридинът се прилага интрате-
кално.

10. Използване съгласно претенция 1,
при което 4-аминопиридинът се прилага инт-
ратекално в доза приблизително от 50 µg/h
до 200 µg/h.

Приложение: 5 фигури

Литература

ARHEM, P. and JOHANSSON, S. (1989) A model for the fast 4-aminopyridine effects on amphibian myelinated nerve fibers. A study based on voltage clamp experiments. *Acta Physiol. Scand.* 137:53-61.

BERIC, A., DIMITRIJEVIC, M.R., and LINDBLOM, U. (1988) Central dysesthesia syndrome in spinal cord injury patients. *Pain* 34:109-116.

BERIC, A. (1990) Altered sensation and pain in spinal cord injury, in: *Recent Achievements in Restorative Neurology 3. Altered Sensation and Pain.* M.R. Dimitrijevic, P.D. Wall and U. Lindblom (eds). Karger:Basel, pp. 27-36.

BLIGHT, A.R. (1983a) Cellular morphology of chronic spinal cord injury in the cat: analysis of myelinated axons by line-sampling. *Neuroscience.* 10:521-543.

BLIGHT, A.R (1983b) Axonal physiology of chronic spinal cord injury in the cat: intracellular recording in vitro. *Neuroscience.* 10:1471-1486.

BLIGHT, A.R. and DECRESCITO, V. (1986) Morphometric analysis of experimental spinal cord injury in the cat: the relation of injury intensity to survival of myelinated axons. *Neuroscience.* 19:321-341.

BLIGHT, A.R. and GRUNER, J.A. (1987) Augmentation by 4-aminopyridine of vestibulospinal free fall responses in chronic spinal-injured cats. *J. Neurol. Sci.* 82:145-159.

BLIGHT, A.R. (1989) Effect of 4-aminopyridine on axonal conduction-block in chronic spinal cord injury. Brain Res. Bull. 22:47-52.

BLIGHT, A.R. (1991) Morphometric analysis of a model of spinal cord injury in guinea pigs, with behavioral evidence of delayed secondary pathology. J. Neurol. Sci. 103:156-171.

BLIGHT, A.R. TOOMBS, J.P., BAUER, M.S., and WIDMER, W.R. (1991) The effects of 4-aminopyridine on neurological deficits in chronic cases of traumatic spinal cord injury in dogs: a phase I clinical trial. J. Neurotrauma 8:103-119.

BOSTOCK, H., SEARS, T.A., and SHERRATT, R.M. (1981) The effects of 4-aminopyridine and tetraethylammonium ions on normal and demyelinated mammalian nerve fibres. J. Physiol. 313:301-315.

BOWE, C.M., KOCSIS, J.D., TARG, E.F., and WAXMAN, S.G. (1987) Physiological effects of 4-aminopyridine on demyelinated mammalian motor and sensory fibers. Ann. Neurol. 22:264-268.

BRESNAHAN, J.C., BEATTIE, M.S., TODD, F.D.III, and NOYES, D.H. (1987) A behavioral and anatomical analysis of spinal cord injury produced by a feedback-controlled impaction device. Exp. Neurol. 95:548-570.

CHANDY, K.G., DECOURSEY, T.E., CAHALAN, M.D., MCLAUGHLIN, C., and GUPTA, S. (1984) Voltage-gated potassium channels are required for human T lymphocyte activation. J.Exp.Med 160:369-385.

CHOQUET, D. and KORN, H. (1988) Modulation of voltage-dependent potassium channels in B-lymphocytes. *Biochem. Pharmacol.* 37:3797-3802.

DAVIS, F.A., STEFOSKI, D., and RUSH, J. (1990) Orally administered 4-aminopyridine improves clinical signs in multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 27:186-192.

DIMITRIJEVIC, M.M., DIMITRIJEVIC, M.R., ILLIS, L.S., NAKAJIMA, K., SHARKEY, P.C., and SHERWOOD, A.M. (1986a) Spinal cord stimulation for the control of spasticity in patients with chronic spinal cord injury: I. Clinical observations. *Cent. Nerv. Syst. Trauma* 3:129-144.

DIMITRIJEVIC, M.R., ILLIS, L.S., NAKAJIMA, K., SHARKEY, P.C., and SHERWOOD, A.M. (1986b) Spinal cord stimulation for the control of spasticity in patients with chronic spinal cord injury: II. Neurophysiologic observations. *Cent. Nerv. Syst. Trauma* 3:145-152.

EIDELBERG, E., STRAEHLEY, D., ERSPAMER, R., and WATKINS, C.J. (1977) Relationship between residual hindlimb-assisted locomotion and surviving axons after incomplete spinal cord injuries. *Exp. Neurol.* 56:312-322.

EIDELBERG, E., STORY, J.L., WALDEN, J.G., and MEYER, B.L. (1981a) Anatomical correlates of return of locomotor function after partial spinal cord lesions in cats. *Exp. Brain Res.* 42:81-88.

EIDELBERG, E., WALDEN, J.G., and NGUYEN, L.H. (1981b) Locomotor control in macaque monkeys. *Brain* 104:647-663.

ELIASSON, S.G. MONAFO, W.W. (1991) Effects of 4-aminopyridine on protein phosphorylation in heat-blocked peripheral nerve. *J. Neurol. Sci.* 105:175-182.

EVENHUIS, J., AGOSTON, S., SALT, P.J., DELANGE, A.R.,
WOUTHUYSEN, W., and ERDMAN, W. (1981) Pharmacokinetics of
4-aminopyridine in human volunteers. Br. J. Anaesth.
53:567-570.

GLOVER, W.E. (1982) The aminopyridines. Gen. Pharmacol.
13:259-285.

HAYES, K.C., BLIGHT, A.R., ALLATT, R.D., et al (1991)
Effects of intravenous 4-aminopyridine on neurological
function in chronic spinal cord injured patients:
preliminary observations. Proc. IBRO World Conf.
Neurosci. p. 345.

ILLIS, L.S., READ, D.J., SEDGEWICK, E.M., and TALLIS,
R.C. (1983) Spinal cord stimulation in the United Kingdom
(Review). J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 46:299-304.

JACK, J.J.B., REDMAN, S.J., and WONG, K. (1981)
Modifications to synaptic transmission at group Ia
synapses on cat spinal motoneurons by 4-aminopyridine.
J. Physiol. 321: 111-126.

JACOBS, M.J., JORNING, P.J., BECKERS, R.C., et al (1990)
Foot salvage and improvement of microvascular blood flow
as a result of epidural spinal cord electrical
stimulation. J. Vasc. Surg. 12:354-360.

JANKOWSKA, E., LUNDBERG, A., RUDOMIN, P., and SYKOVA, E.
(1977) Effects of 4-aminopyridine on transmission in
excitatory and inhibitory synapses in the spinal cord.
Brain Res. 136:387-392.

JANKOWSKA, E., LUNDBERG, A., RUDOMIN, P., and SYKOVA, E. (1982) Effects of 4-aminopyridine on synaptic transmission in the cat spinal cord. *Brain Res.* 240:117- 129.

JELLINGER, K. (1976) Neuropathology of cord injuries, in: *Handbook of Clinical Neurology*, Vol 25, Part I, Injuries of the Spine and Spinal Cord. P.J. Vincken, G.W. Bruyn and R. Braakman (eds). North Holland: Amsterdam, pp. 43-121.

JOSEPHSON, I.R., SANCHEZ-CHAPULA, J., and BROWN, A.M. (1984) Early outward current in rat single ventricular cells. *Circ. Res.* 54:157-162.

KAKULAS, B.A. (1984) Pathology of spinal injuries. *Cent. Nerv. Syst. Trauma* 1:117-129.

KAKULAS, B.A., SMITH, E., GAEKWAD, U., KAE LAN, C., and JACOBSEN, P.F. (1990) The neuropathology of pain and abnormal sensations in human spinal cord injury derived from the clinicopathological data base at the Royal Perth Hospital, in: *Recent Achievements in Restorative Neurology*, 3: Altered Sensation and Pain. M.R. Dimitrijevic, P.D. Wall and U. Lindblom (eds). Karger:Basel, pp. 37-41.

KAKULAS, B.A. and BEDBROOK, G.M. (1969) A correlative clinicoathologic study of spinal cord injury. *Proc. Aust. Assoc. Neurologists* 6:123-132.

KIRCHHOFF, C., LEAH, J.D., JUNG, S., and REEH, P.W. (1992) Excitation of cutaneous sensory nerve endings in the rat by 4-aminopyridine and tetraethylammonium J. *neurophysiol.* 67:125-131.

KOCSIS, J.D., MALENKA, R.C., and WAXMAN, S.G. (1983) Effects of extracellular potassium concentration on the excitability of the parallel fibres of the rat cerebellum. *J. Physiol. (Lond)* 334:225-244.

KOCSIS, J.D., BOWE, C.M., and WAXMAN, S.G. (1986) Different effects of 4-aminopyridine on sensory and motor fibers: pathogenesis of paresthesias. *Neurology* 36 : 117-120.

KOSTKA, P., HANSEBOUT, R., and GUPTA, R.N. (1992) Column liquid chromatographic determination of 4-aminopyridine in plasma and urine after derivatization with benzoyl chloride. *Clin. Biochem.* 25:144.

LEMEIGNAN, M. (1972) Analysis of the action of 4-aminopyridine on the cat lumbar spinal cord. 1. Modification of the afferent volley, the monosynaptic discharge amplitude and the polysynaptic evoked responses. *Neuropharm.* 11:551-558.

LINDEROTH, B., FEDORCSAK, I., and MEYERSON, B.A. (1991) Peripheral vasodilation after spinal cord stimulation: animal studies of putative effector mechanisms. *Neurosurgery* 28:187-195.

LLINAS, R., WALTON, K., SUGIMORI, M., and SIMON, S. (1982) 3- and 4-aminopyridine in synaptic transmission at the squid giant synapse, in: *Aminopyridines and Similarly Acting Drugs: Effects on nerves, Muscles and Synapses*. P. Lechat, S. Thesleff and W.C. Bowman (eds). Pergamon Press: Oxford, pp. 69-79.

MARCHAND, S., BUSHNELL M.C., MOLINA-NEGRO, P., MARTINEZ, S.N., and DUNCAN, G.H. (1991) The effects of dorsal column stimulation on measures of clinical and experimental pain in man. *Pain* 45:249-257.

MEGLIO, M., CIONI, B., and SANDRIC, S. (1981) Spinal cord stimulation and peripheral blood flow: Part 1, in : *Indications for Spinal Cord Stimulation*. Y. Hosobuchi and T. Corbin (eds). Excerpta medica: Amsterdam, pp. 60-66.

MOLGO, J. (1982) Effects of aminopyridines on neuromuscular transmission, in : *Aminopyridines and Similarly Acting Drugs: Effects on Nerves, Muscles and Synapses*. P. Lechat, S. Thesleff and W.C. Bowman (eds). Pergamon Press: Oxford, pp. 95-116.

NOBLE, L.J. and WRATHALL, J.R. (1989) Correlative analyses of lesion development and functional status after graded spinal cord contusive injuries in the rat. *Expl. Neurol.* 103:34-40.

NOORDENBOS, W. and WALL, P.D. (1976) Diverse sensory functions with an almost totally divided spinal cord. A case of spinal cord transection with preservation of part of one anterolateral quadrant. *Pain* 2:185-195.

OCHOA, J. (1982) Pain in local nerve lesions, in: *Abnormal Nerves and Muscles as Impulse Generators*. W.I. Culp and J. Ochoa (eds). Oxford University Press: New York, pp. 568-587.

SAADÉ, N., JABBUR, S.J., and WALL, P.D. (1985) Effects of 4-aminopyridine, GABA and bicuculline on cutaneous receptive fields of cat dorsal horn neurons. *Brain Res.* 344: 356-359.

SAADÉ, N.E., BANNA, N.R., KHOURY, A., LABBUR, S.J., and WALL, P.D. (1982) Cutaneous receptive field alterations induced by 4-aminopyridine. Brain Res. 232: 177-180.

SEGAL, J.L., BRUNNEMANN, S.H., ELTORAI, I.M. and VULPE, M. (1991) Decreased systemic clearance of lorazepam in humans with spinal cord injury. J. Clin. Pharmacol. 31:651-656.

SEMBA, K., GELLER, H.M., and EGGER, M.D. (1985) 4-aminopyridine induces expansion of cutaneous receptive fields of dorsal horn cells. Brain Res. 343:398-402.

SHEALY, C.N., MORTIMER, J.T., and RESWICK, J. (1967) Electrical inhibition of pain by stimulation of the dorsal columns: preliminary clinical report. Anesth. Analg. 46: 489.

SMITH, K.J. and MCDONALD, W.I. (1982) Spontaneous and evoked electrical discharges from a central demyelinating lesion. J. Neurol. Sci. 55:39-47.

STEFOSKI, D., DAVIS, F.A., FAUT, M., and SCHAUF, C.L. (1987) 4-Aminopyridine improves clinical signs in multiple sclerosis. Ann. Neurol. 21:71-77.

STEFOSKI, D., DAVIS, F.A., FITZSIMMONS, W.E., LUSKIN S.S., RUSH, J., and PARKURST, G.W. (1991) 4-Aminopyridine in multiple sclerosis: Prolonged administration. Neurology 41:1344-1348.

TAPIA, R., SITGES, M., and MORALES, E. (1985) Mechanism of the calcium-dependent stimulation of transmitter release by 4-aminopyridine in synaptosomes. Brain Res. 361:373-382.

TARG, E.F. and KOCSIS, J.D. (1985) 4-Aminopyridine leads to restoration of conduction in demyelinated rat sciatic nerve. Brain res. 328: 358-361.

TARG, E.F. and KOCSIS, J.D. (1986) Action potential characteristics of demyelinated rat sciatic nerve following application of 4-aminopyridine. Brain Res. 363:1-9.

TASKER, R.R. (1990) Pain resulting from central nervous system pathology (central pain), in: The Management of Pain, Vol 1., J.J. Bonica (ed). Lea and Febiger: Philadelphia, pp. 264-283.

THESLEFF, S. (1980) Aminopyridines and synaptic transmission. Neuroscience 5:1413-1419.

UGES, D.R.A. and HUIZINGA, T. (1981) 4-Aminopyridine: Analysis of the substance and a method for the preparation of a solution for injection in man. Pharm. Acta Helv. 56: 158-162.

UGES, D.R.A., SOHN, Y.J., GREIJNDANUS, B., SCAF, A.H.J., and AGOSTON, S. (1982) 4-Aminopyridine kinetics. Clin. Pharmacol. Ther. 31: 587-593.

WAGONER, P.K. and OXFORD, G.S. (1990) Aminopyridines block an inactivating potassium current having slow recovery kinetics. Biophys. J. 58:1481-1489.

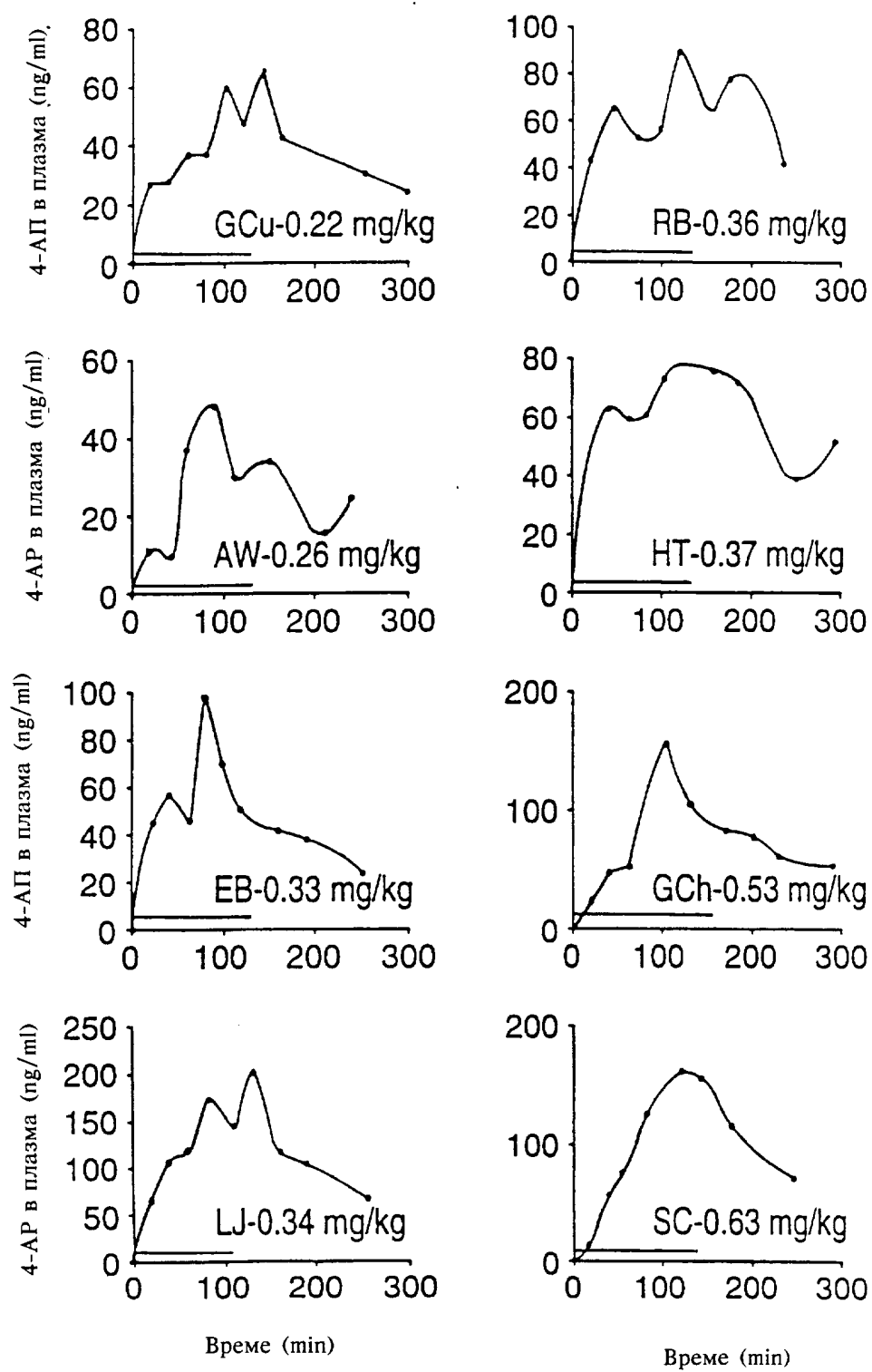
WAXMAN, S.G. and WOOD S.L. (1984) Impulse conduction in inhomogeneous axons: effects of variation in voltage-sensitive ionic conductances on invasion of demyelinated axon segments and preterminal fibers. Brain Res. 294:111-122.

WAXMAN, S.G., KOCSIS, J.D., and ENG, D.L. (1985) Ligature-induced injury in peripheral nerve: electrophysiological observations on changes in action potential characteristics following blockade of potassium conductance. Muscl. Nerve 8:85-92.

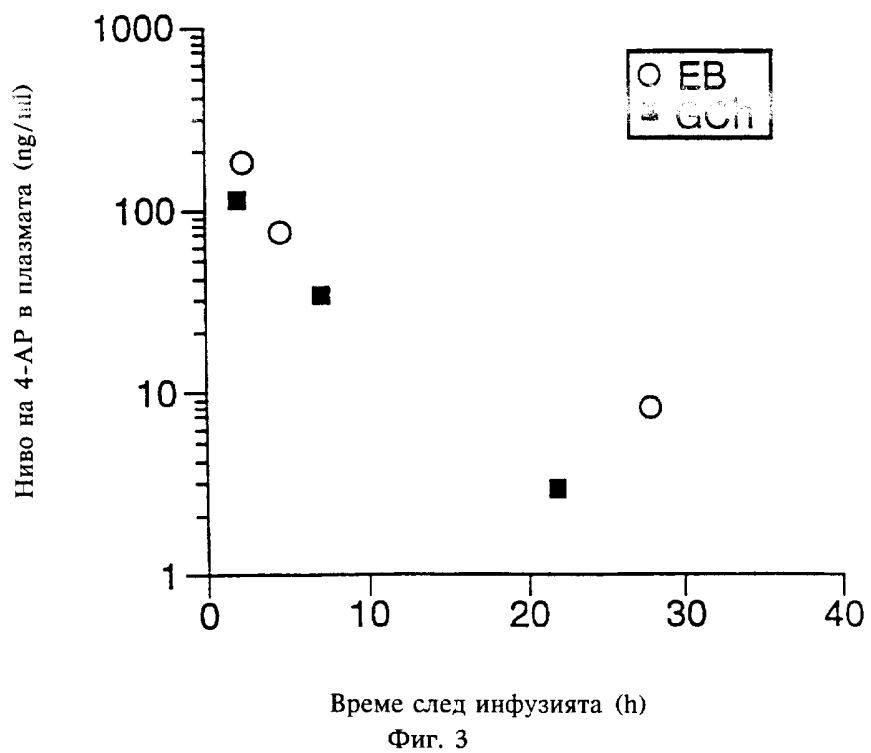
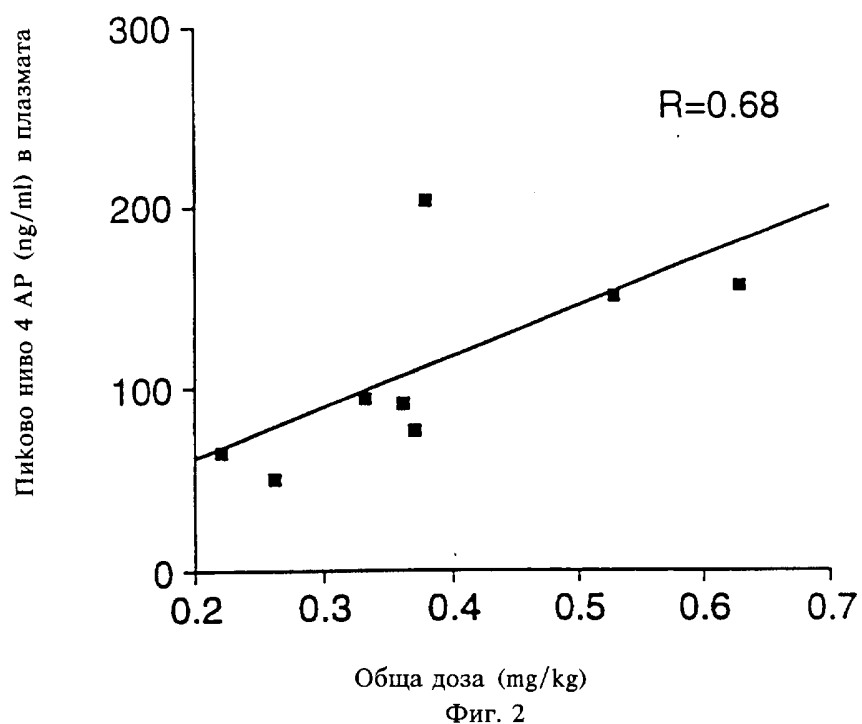
XU, X.-J., HAO, J.-X., ALDSKOGIUS, H., SEIGER, A., and WIESENFIELD-HALLIN, Z. (1992) Chronic pain-related syndrome in rats after ischemic spinal cord lesion: a possible animal model for pain in patients with spinal cord injury: Pain 48:279-290.

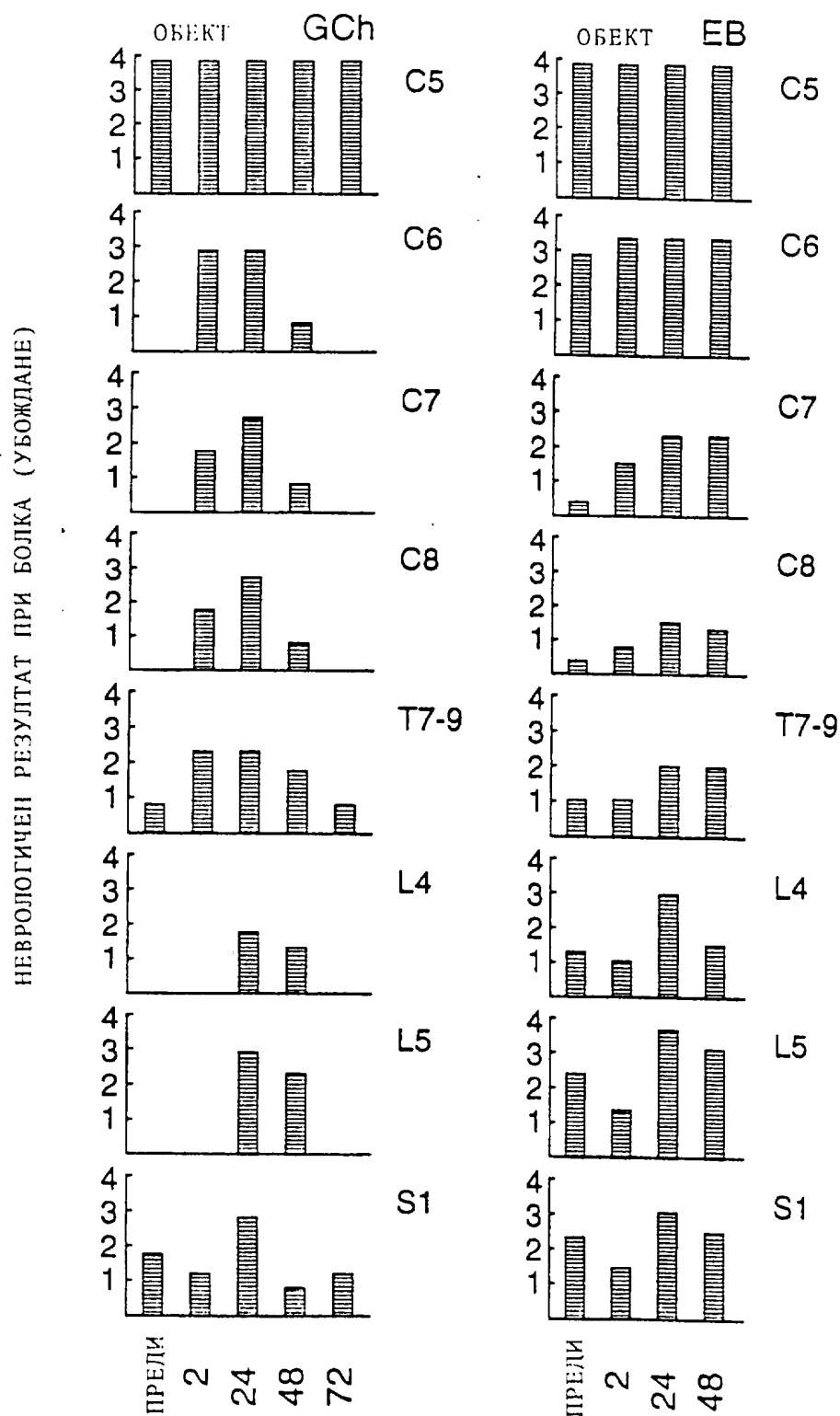
YEH, J.Z., OXFORD, G.S., WU, C.H. and NARAHASHI, T. (1976a) Interactions of aminopyridines with potassium channels of squid axon membranes. Biophys. J. 16:77-81.

YEH, J.Z., OXFORD, G.S., WU, C.H. and NARAHASHI, T. (1976b) Dynamics of aminopyridine block of potassium channels in squid axon membrane. J. Gen. Physiol. 68: 5195-535.

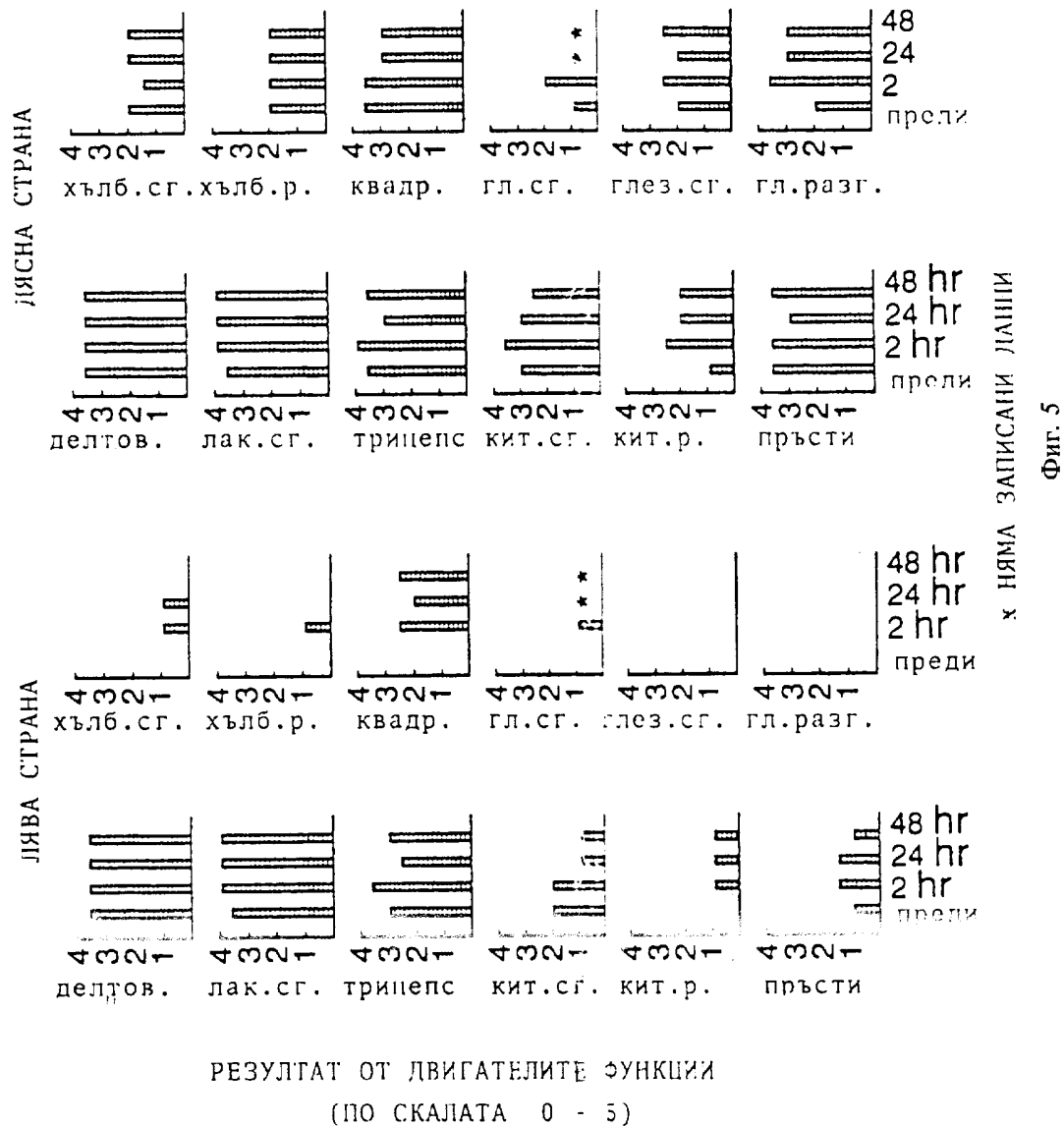


Фиг. 1





Фиг. 4



Издание на Патентното ведомство на Република България
1113 София, бул. "Д-р Г. М. Димитров" 52-Б

Експерт: Из.Червенякова

Редактор: В.Алтаванова

Пор. № 39622

Тираж: 40 МВ